ÜBER FLORES KOSO.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER PHILOSOPHISCHEN DOKTORWÜRDE

DER

PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT

DER

UNIVERSITÄT ROSTOCK

VORGELEGT VON

MAX LEICHSENRING
AUS DRESDEN.

LEIPZIG
GUSTAV FOCK.
1893.

Referent: Prof. Dr. Michaëlis.

Über flores Koso.

Die Untersuchungen, über welche ich im nachstehenden Bericht erstatte, und die ich auf Anregung meines hochverehrten Lehrers, des Herrn Professor Dr. med. R. Boehm im Januar 1892 begonnen habe, waren auf das Ziel gerichtet, dem wirksamen Bestandteil der *flores Koso* nachzuforschen und zugleich die Angaben früherer Autoren zu revidieren.

Flores Koso, die getrockneten, weiblichen Blütenstände von *Hagenia abyssinica, Wildenow* oder *Brayera anthelminthica, Kunth* sind gegenwärtig wohl eines der gebräuchlichsten und zuverlässigsten Bandwurmmittel. In Europa ist die aus Abessinien stammende Drogue erst in diesem Jahrhundert durch den französischen Arzt A. Brayer bekannt geworden, welcher 1819 in Constantinopel nicht nur die Anwendung der Kosoblüten sah, sondern sie auch nach langen Bemühungen in kleineren Mengen erhielt. Er liess Proben der Blüten in Paris von dem Systematiker Kunth untersuchen, welcher der Pflanze den Namen *Brayera anthelminthica* gab. Robert Brown und Fresenius bewiesen dann 1837 die Identität der *Brayera anthelminthica* mit der von Wildenow benannten *Hagenia abyssinica.*

Im Jahre 1840 wurden die Kosoblüten zum ersten Mal von Wittstein auf ihre Bestandteile untersucht, welcher Wachs, Zucker, Gummi, Gerbstoff, ein geschmackloses und ein kratzend bitter schmeckendes Harz daraus erhielt.[1]) Er behandelte die Drogue nacheinander mit Äther, Alkohol, Wasser und Salzsäure. Aus dem gelblichgrünen Ätheraus-

[1]) Repertorium f. d. Pharmacie 1840, Band 71 pag. 25.

zug erhielt er einen bröckligen, dunkelgrünen Rückstand von bitterem, zusammenziehendem, hintennach kratzendem Geschmack, aus welchem sich ein fettes Öl abtrennen liess. In heissem Alkohol löste sich der Rückstand vollständig, schied jedoch beim Erkalten weisse Flocken aus, welche den Charakter des Wachses zeigten.

Ferner konnte durch Zusatz von Eisenchlorid Gerbstoff nachgewiesen werden. Um den bitterkratzenden Stoff näher zu studieren, digerierte Wittstein den ätherischen Auszug wiederholt mit 40% Alkohol, aus welchem schliesslich der Körper als grünliches Harz erhalten wurde.

Der dunkelgelbe, schwach sauer reagierende alkoholische Auszug der vorher mit Äther extrahierten Drogue ergab durch Abdampfen ein braungelbes, anfangs süsslich, später zusammenziehend schmeckendes Extrakt. Nach dem Schütteln desselben mit kaltem Wasser blieb eine geschmacklose, erdfarbige Substanz zurück, welche Gerbsäure und Zucker enthielt.

Der wässrige Auszug war braungelb, schmeckte adstringierend, reagierte sauer und färbte sich auf Zusatz von Eisenchlorid schwarzgrün. Nach Abscheidung der Gerbsäure durch Hausenblase konnte in der nunmehr blassgelben Flüssigkeit noch Gummi, phosphorsaures und salzsaures Kali, Magnesia und Kalk nachgewiesen werden.

Im salzsauren Auszug der Drogue wurde nur Gerbstoff gefunden.

Sechzehn Jahre später, im Jahre 1856, beschäftigte sich Harms mit der chemischen Untersuchung der Asche der *flores Koso*.[1]) Dieselbe besteht aus: Kohlensäure, Schwefelsäure, Kieselsäure, phosphorsaurem Eisenoxyd, Chlornatrium, Thonerde, Magnesium, Kalk, Natrium, Kali und Manganoxyduloxyd.

1857 veröffentlichte derselbe Autor eine zweite Untersuchung „Über das Harz der *flores Koso*“[2]), worin er mit-

[1]) Archiv d. Pharmacie 1856 II pag. 165.
[2]) Jbid. 1857 pag. 301.

teilt, dass das Harz aus frischen *flores Koso* grün und wirksam, das Harz aus alter Drogue dagegen gelb und unwirksam sei.

Den wirksamen Bestandteil der *flores Koso* zu finden, war das Ziel einer Untersuchung Pavesis.[1]) Er behandelte die Drogue mit gelöschtem Kalk und 36% Alkohol bei 60 bis 70° C unter bisweiligem Umschütteln. Nach zwei Stunden der Ruhe goss er die Flüssigkeit ab und wiederholte dieses Verfahren zweimal, filtrierte und destillierte den Alkohol ab. Aus dem Rückstand schied Eisessig einen flockigen harzartigen Körper ab, den er *Koussin* nannte. Diese Substanz kristallisierte nicht. Über ihre chemische Zusammensetzung und Reaktionen, sowie über ihre Wirksamkeit teilt Pavesi nichts näheres mit.

Im selben Jahre erschien ferner eine Mitteilung von Bedall „Neue chemische Untersuchung der Brayera anthelminthica".[2]) Der Gang der Untersuchung war derselbe, den Wittstein (s. oben) eingeschlagen hatte, auch die Resultate dieser Arbeit sind im wesentlichen dieselben gewesen, während Bedall das Koseïn von St. Martin[3]) nach dessen Vorschrift nicht erhalten konnte.

St. Martin will das Koseïn durch Ausziehen der *flores Koso* mit Alkohol, Behandeln des alkoholischen Extraktes mit Wasser, Wiederauflösen des ungelöst gebliebenen in Alkohol und Abdampfen des letzteren in seidenartigen Krystallen erhalten haben.

1862 veröffentlicht Bedall eine zweite Arbeit[4]) „Über Brayera anthelminthica", worin er eine Methode der Darstellung des Koussin angiebt, welche mit der des Pavesischen Koussins übereinstimmt. Er digeriert die zer-

---

[1]) Archiv d. Pharmacie 1859 I pag. 373.

[2]) Wittsteins Vierteljahresschrift f. praktische Pharmacie 1859 VIII pag. 48.

[3]) Bulletin de Thérapie XXIV pag. 285, konnte ich leider nicht erhalten.

[4]) Wittsteins Vierteljahresschrift f. praktische Pharmacie 1862 XI pag. 207.

stossenen Kosoblüten mehrmals mit Kalk und höchst rektifiziertem Alkohol. Das Koussin erhielt er durch Fällen des filtrierten Auszuges mit Essigsäure als ein nach dem Trocknen leicht zerreibliches, amorphes, in Alkohol, Äther und kaustischen Alkalien lösliches Pulver. Die Lösungen in Alkohol und Äther reagierten sauer. Nach den Resultaten der Elementaranalyse stellte Bedall die Formel C_{26} H_{44} O_5 auf.

Anfang der siebziger Jahre brachte die chemische Fabrik von Merck in Darmstadt einen krystallinischen Bestandteil der *flores Koso* in den Handel, dessen Darstellungsweise Fabrikgeheimnis geblieben ist. Flückiger, der in Gemeinschaft mit Buri[1]) diesen Körper genauer untersuchte, vermutet, dass er aus Bedallschem Kosin isoliert worden sei. Die hauptsächlichsten Resultate der Untersuchung von Flückiger und Buri sind folgende.

Mit Wasser oder Alkohol befeuchtetes Lackmuspapier wird von Kosin Merck nicht verändert. Es schmilzt bei 142° und krystallisiert in gelben Nadeln. Beim stärkeren Erhitzen des Kosins tritt Geruch nach Buttersäure auf, zugleich entsteht ein rotbrauner Teer, der in verdünnter Eisenchloridlösung eine blaue Färbung hervorruft. Kosin ist nicht sublimierbar, in Wasser unlöslich, dagegen reichlich löslich in Äther, Benzol, Schwefelkohlenstoff und Chloroform, weniger reichlich in Eisessig und Alkohol. Durch langsame Abkühlung warmer alkoholischer Lösungen erhält man schöne Krystalle.

Zwei Teile konzentrierte Schwefelsäure lösen einen Teil Kosin zu einer gelblichen Flüssigkeit, welche später scharlachrot wird, dies geschieht schneller beim Erwärmen. In letzterem Fall tritt ein Geruch nach Buttersäure auf, ebenso beim Kochen mit konzentrierter Salpetersäure. Neutrales Bleiacetat, in Alkohol gelöst, bewirkt in einer weingeistigen Lösung keine Fällung. Eine alkoholische Kosinlösung wird durch Eisenchlorid rotbraun gefärbt. In Chloroform gelöstes Kosin erleidet durch Zusatz von Brom keine sichtbare Veränderung.

[1]) Archiv d. Pharmacie 1874 pag. 193.

Kosin wird leicht gelöst von wässrigen Lösungen kaustischer oder kohlensaurer Alkalien mit gelber Farbe, welche beim längeren Stehen in Rot übergeht. Neutralisiert man diese Lösungen, so entsteht je nach Temperatur und Koncentration ein weisser oder ein schwach gelblicher mikrokrystallinischer Niederschlag, welcher ausgewaschen in feuchtem Zustand geschmacklos und ohne Wirkung auf Lackmus ist und mit dem ursprünglichen Kosin übereinstimmt. Schmilzt man Kosin mit Ätzkali und löst die Schmelze in Wasser auf, so erfolgt beim Übersättigen mit Schwefelsäure keine Ausscheidung. Die Flüssigkeit riecht aber nach Ameisen- und Buttersäure und enthält Oxalsäure. Die Verbrennung im Sauerstoffstrom ergab:

	I	II	III	IV	Mittel
% C	65,06	64,92	64,25	64,23	64,61
% H	6,73	6,81	6,61	6,52	6,67

auf Grund welcher Werte die Formel C_{31} H_{38} O_{10} aufgestellt wurde, welche 65,26% C und 6,66% H verlangt.

Bei der Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure auf Kosin erhielten Flückiger und Buri eine flüchtige Fettsäure, die durch Destillation gereinigt wurde. Das Silbersalz dieser Säure erwies sich als isobuttersaures Silber. Als Spaltungsprodukt trat bei der Zersetzung mit Schwefelsäure ein in roten Flocken sich ausscheidender Körper auf, der in Alkohol, Äther und koncentrierter Schwefelsäure löslich war, aber nicht krystallinisch erhalten werden konnte. Ferner stellten Flückiger und Buri durch Kochen mit Essigsäureanhydrid ein Acetylderivat dar, das in weissen warzenförmigen Aggregaten krystallisierte. Auf Grund ihrer Untersuchungen nahmen die Autoren an, dass bei der Acetylierung 6 Acetylgruppen in das Molekul des Kosins eingetreten seien. Der Versuch Kosin zu benzoylieren gelang nicht.

Die neueste Untersuchung der *flores Koso* rührt von Liotard „Étude sur le kousso“[1]) her. Dieser Forscher erhielt

[1]) Journal de Pharmacie et de Chimie 1888 XVII pag. 507.

nach der schon von Pavesi angewendeten Methode einen harzartigen Niederschlag, der aus Kosin, Tannin und Harz bestand. Daraus isoliert er das Kosin durch Behandlung mit kohlensaurem Natrium als Natriumkosinat. Das Tannin und Harz entfernt er durch Chloroform, in welchem das Natriumkosinat unlöslich ist. Dieses Salz versetzt er mit Essigsäure, wobei das Kosin ausfällt. Das so erhaltene Kosin krystallisiert er aus 90% Alkohol um und fand den Schmelzpunkt bei 142°. Der analytische Nachweis, dass in der That Kosin vorlag, ist nicht geführt worden. Auch fehlen nähere Angaben über die sonstigen Eigenschaften des Körpers.

Das Kosin wird gegenwärtig ziemlich allgemein in den Handbüchern als das wirksame Prinzip der *flores Koso* bezeichnet. Trotzdem findet sich in der Litteratur, soweit mir bekannt, nirgends weder eine pharmakologische Experimentaluntersuchung des Stoffes, noch auch ein Bericht darüber, dass es sich bei Bandwurmkuren bewährt hätte. In der mehrfach zitierten Arbeit von Flückiger und Buri bemerken diese Autoren, auf eine Äusserung Buchheims bezugnehmend, dass bei einer Vergleichung des von Dr. Bedall dargestellten Kosins mit dem von E. Merck gewonnenen Präparate das Mercksche Kosin die wurmtreibende Wirkung im unvergleichlich geringeren Grade äussere, als das bisher übliche Bedallsche Präparat und daher als Arzneimittel kaum eine Zukunft zu haben scheine.

Auf diese Bemerkung erwidert nun Buchheim[1]) wörtlich folgendes: „Wenn ich auch bei den wenigen Versuchen, bei denen ich das Mercksche Präparat bisher anzuwenden Gelegenheit hatte, keinen positiven Erfolg erzielen konnte, so möchte ich dem obigen Ausspruche meines verehrten Herrn Kollegen (Flückiger) doch noch nicht beitreten!“ Es folgen nun nur einige theoretische Betrachtungen, aus welchen Buchheim die Möglichkeit einer anthelminthischen Wirkung des Kosins folgert, weitere Beobachtungen über eine solche Wirkung sind aber bisher nicht bekannt geworden.

[1]) Buchner, neues Repertorium 25 pag. 423.

Eigene Versuche über die Wirkung des Kosins an Bandwürmern oder Bandwurmkranken anzustellen, hatte ich keine Gelegenheit. Da indessen, wie mir Professor Böhm mitteilte, alle bisher genauer untersuchten wirksamen Bestandteile von Bandwurmmitteln auch für andere Tiere, namentlich für Frösche, sich als giftig erwiesen, und es sonach höchst unwahrscheinlich ist, dass ein für Frösche ungiftiger Körper der wirksame Bestandteil eines Bandwurmmittels ist, so habe ich an Fröschen sowohl mit Merckschem Kosin, als auch mit anderen im Verlauf meiner Arbeit erhaltenen Kosinprodukten Versuche angestellt, die natürlich die Art und Weise der pharmakologischen Wirkung unberücksichtigt lassen mussten und sich nur auf den Nachweis der Giftigkeit oder Ungiftigkeit erstrecken konnten. Bezüglich des Kosins kam ich nun bald zu der Überzeugung, dass es der wirksame Bestandteil nicht sein kann, weil es in schwach alkalischen Flüssigkeiten, so gut wie unlöslich ist. Mehrere Froschversuche hatten denn auch ein ganz negatives Ergebnis. Das Kosin erwies sich auch in amorphem Zustande, in welchem man es leicht durch Fällen seiner Lösung in verdünnter Natronlauge mit einer Säure, Abfiltrieren und Auswaschen des Niederschlags erhält, als unwirksam und fast unlöslich in kohlensauren Alkalien.

Das mir zur Verfügung gestellte von Merk bezogene Kosin bildete zitronengelbe Nadeln vom Schmelzpunkt 142° C und zeigte auch im übrigen das Verhalten, wie es von Flückiger und Buri angegeben worden ist. Im Bezug auf die Löslichkeit in verschiedenen Lösungsmitteln muss ich hervorheben, dass ich reines Kosin in kohlensauren Alkalien nur ausserordentlich wenig löslich fand. In Ätzalkalien löst es sich zwar reichlicher aber ziemlich langsam und mit gelber Farbe. Auf ammoniakalische Silberlösung wirkt Kosin in der Hitze unter Bildung eines Silberspiegels reduzierend ein, hingegen wird Kupfersulfat durch eine alkalische Kosinlösung nicht reduziert. Metallisches Natrium, in eine mittels sorgfältig entwässerten Äthers dargestellte Kosinlösung eingetragen, bewirkte keine Wasserstoffentwicklung, wonach die

Anwesenheit von Hydroxylgruppen im Kosinmolekul als sehr unwahrscheinlich bezeichnet werden muss.

Zur Vorbereitung für die Elementaranalyse krystallisierte ich das Kosin wiederholt aus kochendem Alkohol um, aus welchem es sich beim Erkalten in schönen, langen, lichtzitronengelben, büschelförmig vereinigten Nadeln ausscheidet. Der Schmelzpunkt des 3—4 mal umkrystallisierten Präparates lag konstant bei 148° C., also erheblich höher als der des käuflichen Präparates.

Zunächst wurde eine Reihe von Verbrennungen im offnen Rohr und Schiffchen mit Kupferoxyd ausgeführt. Es ergaben sich folgende Resultate:

I.	0,2635 gr.	Kosin	lieferten	0,6225 CO_2	und	0,173	H_2O
II.	0,1815 „	„	„	0,4285 CO_2	„	0,1175	H_2O
III.	0,2455 „	„	„	0,5805 CO_2	„	0,1605	H_2O
IV.	0,2035 „	„	„	0,4810 CO_2	„	0,1325	H_2O
V.	0,1200 „	„	„	0,3050 CO_2	„	0,092	H_2O

	gefunden					
	I	II	III	IV	V	Mittel
% C	64,42	64,38	64,48	64,46	64,4	64,44
% H	7,28	7,19	7,26	7,22	7,90	7,37

Obwohl die so erhaltenen, untereinander gut übereinstimmenden Resultate, im Mittel 64,44 % C, 7,37 % H, als zur Bestätigung der von Flückiger und Buri mitgeteilten, im Mittel sich auf 64,61 % C und 6,67 % H beziffernden Werte hinreichend hätten angesehen werden können, habe ich doch noch eine Reihe weiterer Verbrennungen im Bajonettrohr mit chromsaurem Blei ausgeführt. Die Veranlassung dazu gab der erheblich höhere Kohlenstoffgehalt, den ich bei der Analyse eines von mir selbst nach einer unten zu beschreibenden Methode dargestelten Kosins erhalten hatte. Die Ergebnisse, der mit Bleichromat ausgeführten Analysen waren folgende:

I.	0,241 gr. Kosin	lieferten	0,578 CO_2	und	0,1685 H_2O
II.	0,213 „	„	0,518 CO_2	„	0,1495 H_2O
III.	0,232 „	„	0,562 CO_2	„	0,1510 H_2O
IV.	0,249 „	„	0,601 CO_2	„	0,1705 H_2O

	gefunden					Berechnet für
	I	II	III	IV	Mittel	C_{23} H_{30} O_7
% C	65,56	66,33	65,95	65,86	65,92	66,03
% H	7,76	7,79	7,24	7,59	7,59	7,1

Zunächst suchte ich noch die Molekulargrösse des Kosins zu ermitteln. Nachdem ich mich vergeblich bemüht hatte nach Beckmanns Siedepunktsmethode[1]) mit den verschiedensten Lösungsmitteln, wie Äther, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Chloroform und Aceton übereinstimmende Resultate zu erhalten, hatte ich mit der Gefrierpunktsmethode von Beckmann, mit Benzol als Lösungsmittel, bessere Erfolge.

Es ergaben sich nach der Gefrierpunktsmethode folgende Zahlen:

Kosin	Benzol	Const. Temp.	Erniedrig.	Molekularg.	Mittel
0,289	16,3715	3,41	0,21°	412	
0,5305	16,3715	3,41	0,38°	418	
0,581	16,3345	3,38	0,42°	415	420
1,1885	16,3345	3,38	0,84°	424	
0,58625	17,1955	3,37	0,4°	418	
1,13375	17,1955	3,37	0,76°	425	

Diesen Befunden würde die oben angegebene Formel C_{23} H_{30} O_7 entsprechen.

Flückiger und Buri hatten schon, wie oben erwähnt, nachgewiesen, dass man durch Behandlung des Kosins mit Schwefelsäure Isobuttersäure erhält. Da es für die Kenntnis der Konstitution des Kosin von grosser Wichtigkeit ist, zu wissen, wieviel Butyrile darin gebunden sind, führte ich

[1]) Zeitschrift für physikalische Chemie II 9. 10.

verschiedene quantitative Bestimmungen nach folgender Methode aus.

Es wurden jedesmal 1,0 gr. bei 100° C getrockneten Kosins mit 20 ccm einer 15% Schwefelsäure im geschlossenen Rohre bis zur vollständigen Zersetzung bei einer Temperatur von 150—170° C im Paraffinbade 6—10 Stunden erhitzt. Nach beendigter Reaktion kühlte ich das Rohr gut ab, um möglichst geringe Verluste beim Öffnen an Isobuttersäure zu haben, füllte den Inhalt desselben in einem Destillationskolben und destillierte die Isobuttersäure mit Wasserdämpfen ab. Das Destillat wurde in 20 ccm vorgelegter Normalkalilauge aufgefangen. Nach beendigter Destillation titrierte ich mit Normalschwefelsäure zurück und konnte auf diese Weise leicht die Isobuttersäure berechnen. Als Indikator gebrauchte ich Phenolphtaleïn.

Es ergaben sich folgende Zahlen:

I	II	III	
34,32%	34,32%	34,76%	Isobuttersäure.

Aus diesen Zahlen ergiebt sich, dass sich aus einem Molekul Kosin wahrscheinlich zwei Moleküle Buttersäure abspalten. Nach der Formel $C_{23}\ H_{30}\ O_7$ würden für ein Molekul 21,05%, für zwei Moleküle 42,10% Buttersäure sich berechnen. Von letzterer Zahl sind nun allerdings die von mir gefundenen Werte noch erheblich entfernt. Da ich ausserdem nicht im stande bin, den Beweis strikte zu führen, dass sich ausser Isobuttersäure nicht am Ende noch eine andere flüchtige Säure aus dem Kosin abspaltet, so kann ich vor der Hand aus den mitgeteilten Resultaten noch keine weiteren Schlussfolgerungen ziehen.

Meine Bemühungen die neben der Buttersäure auftretenden Spaltungsprodukte des Kosins genauer zu charakterisieren, sind leider fruchtlos gewesen. Ich hatte zu diesem Zwecke mehrfach das Kosin auch mit Salzsäure im zugeschmolzenen Rohre auf 150—200° C erhitzt und hier ebenso, wie bei der Spaltung mit Schwefelsäure ausser Buttersäure nur einen

amorphen, lebhaft rot gefärbten Körper erhalten, aus welchem auf keine Weise besser charakteristische Substanzen zu gewinnen waren. Ich möchte nur darauf hinweisen, dass dieser rote amorphe Körper in seinen Eigenschaften manche Ähnlichkeit zeigt mit den Spaltungsprodukten, welche bei der Zersetzung der Filixsäure und der Pannasäure neben Buttersäure entstehen.

Die Frage, ob das Kosinmolekul Hydroxylgruppen enthält, ist noch nicht mit genügender Schärfe beantwortet Nach dem oben mitgeteilten Verhalten einer ätherischen Kosinlösung gegen metallisches Natrium ist es zum mindesten unwahrscheinlich.

Flückiger und Buri erhielten zwar durch Kochen des Kosins mit Essigsäureanhydrid einen krystallinischen, bei 135° C schmelzenden Körper und nahmen nach der Menge des aus einer gewogenen Kosinmenge erhaltenen Acetylproduktes an, dass sogar sechs Hydroxylwasserstoffe durch die Acetylgruppe vertreten gewesen seien.

Es muss zunächst wohl schon Bedenken erregen, dass das von Flückiger und Buri erhaltene Produkt beim Auswaschen mit Alkohol an Gewicht verlor, und Essigsäure abgab.

Ich habe nun auch meinerseits versucht das Kosin zu acetylieren und zwar nach der Liebermannschen Methode durch einstündiges Kochen von reinem Kosin mit gleichen Teilen Essigsäureanhydrid und entwässertem Natriumacetat.

Es resultierte eine farblose, syrupöse Flüssigkeit, die, in kaltes Wasser gegossen, nach einiger Zeit fest und hart wurde und sich zu einem krystallinischen Pulver zerreiben liess, das trotz lange fortgesetzten Auswaschens mit Wasser den Geruch nach Essigsäureanhydrid nicht verlor. Das Pulver schmolz schon bei 82° C und liess sich aus keinem der versuchten Lösungsmittel umkrystallisieren. Aus Alkohol, worin es leicht löslich war, verblieb ein farbloser, immer noch nach Essigsäureanhydrid riechender Syrup, der in Wasser gebracht wieder fest und krystallinisch wurde. Da auch der Versuch, aus diesem Produkte durch vorsichtiges Erwärmen mit kon-

centrierter Schwefelsäure Kosin wieder abzuspalten, misslang, (es trat unter Buttersäuregeruch und Rotfärbung Zersetzung ein), so habe ich von der Analyse des Körpers, den ich für ein gut charakteristisches Acetylprodukt nicht ansehen konnte, Abstand genommen.

Die Benzoylierung des Kosins ist auch Flückiger und Buri nicht gelungen. Um auch in dieser Richtung wenigstens einen Versuch zu machen, schüttelte ich Lösungen des Kosins in 10% Natronlauge mit Benzoylchlorid so lange, bis der Geruch des letzteren vollständig verschwunden war. Es fiel hierbei ein gelblicher, harzartiger Körper aus, welcher, zum Zweck der Reinigung mit heissem Wasser wiederholt ausgekocht wurde. Der Rückstand wurde abfiltriert und in heissem Alkohol gelöst, aus welcher Lösung sich ein weisser Körper in Krystallwarzen ausschied, der aber beständig den Geruch nach Benzoësäure zeigte. Der Schmelzpunkt dieses Körpers lag bei 176° C. Die Verbrennungen im Sauerstoffstrom ergaben folgende Zahlen:

I.	0,1190	Substanz	lieferten	0,258	CO_2	und 0,0495	H_2O
II.	0,1565	„	„	0,4145	CO_2	„ 0,0785	H_2O
III.	0,2475	„	„	0,6065	CO_2	„ 0,1175	H_2O
IV.	0,2315	„	„	0,503	CO_2	„ 0,098	H_2O

	gefunden				Berechnet für
	I	II	III	IV	Monobenzoylkosin
% C	59,16	62,24	66,82	59,18	69,15
% H	4,62	5,56	5,27	4,75	6,51

Diese unter sich schon weit differierenden Resultate können zur Stütze der Annahme, dass ein einheitlicher Körper vorlag, nicht verwendet werden. Für meinen Teil glaube ich daher nicht, dass aus dem Verhalten des Kosins gegen Essigsäureanhydrid und Benzoylchlorid auf das Vorhandensein von Hydroxylgruppen im Kosinmolekul geschlossen werden kann.

Bei meinen weiteren Untersuchungen, die die Auffindung des wirksamen Bestandteils zum Ziele hatten, bin ich von der

Mutterdrogue ausgegangen, und nachdem sich herausgestellt hatte, dass der wirksame Körper in das ätherische Extrakt der Blüten übergeht, habe ich schliesslich eine grössere Quantität von E. Merck in Darmstadt bezogenen *Extractum florum Koso aethereum* verarbeitet.

Es war ausserdem mein Augenmerk darauf gerichtet, ob das krystallinische Kosin als präformierter, normaler Bestandteil in den *flores Koso* enthalten ist, und zweitens, ob ausserdem noch andere chemisch charakteristische Substanzen zugegen sind.

Um dem wirksamen Bestandteil auf die Spur zu kommen, mussten natürlich Schritt für Schritt die durch die chemischen Manipulationen von einander getrennten Produkte auf ihre Wirksamkeit geprüft werden.

Ein Kilo gepulverte Kosoblüten wurde mit Äther erschöpft. Die erhaltene Extraktmenge betrug ungefähr 25 Prozent der angewendeten Drogue und bestand aus einer dunkelgrünen, dickflüssigen Masse. Eine mittels Natriumkarbonat und Wasser aus einer kleinen Quantität des Extraktes hergestellte wässrige Lösung erwies sich als intensiv giftig für den Frosch, so dass vorläufig von der weiteren Verarbeitung der bereits mit Äther erschöpften Drogue abgesehen werden konnte.

Das ätherische Extrakt wurde nun mit den unter 50° C siedenden Anteilen des Petroläthers am Rückflusskühler so lange behandelt, bis nichts mehr in Lösung ging. Der ungelöste Rückstand war pulverig und erwies sich bei einem Froschversuch als unwirksam. Der in Lösung gegangene Teil, nach Abdestillation des Petroläthers eine harzähnliche grüne Masse, war wirksam. 0,004 gr. in 1ccm Wasser mit Hilfe von einem Tropfen koncentrierter Sodalösung gelöst und in den Brustlymphsack eines Frosches injiciert, töteten das Tier unter den Erscheinungen allgemeiner Lähmung nach 50 Minuten.

Beim Erwärmen löste sich diese Substanz in Spiritus vollständig. Beim Erkalten der Lösung schieden sich fettähnliche Massen aus, von welchen abfiltriert wurde. Das ab-

geschiedene Fett konnte durch wiederholtes Auflösen in heissem Alkohol gereinigt werden und ein Wirkungsversuch zeigte, dass es unwirksam war. Der wirksame Bestandteil musste sonach in der alkoholischen Mutterlauge zurückgeblieben sein. Nach dem Abdestillieren des Alkohols verblieb wieder eine grüngefärbte, harzartige Masse, deren Wirksamkeit aber nun schon erheblich zugenommen hatte; 0,004 gr. lähmten nun einen Frosch schon nach 15 Minuten und töteten ihn nach 30 Minuten. Ich löste nun das soweit gereinigte Extrakt wieder in der eben hinreichenden Menge Äther und schüttelte die ätherische Lösung wiederholt mit 25% wässriger Sodalösung aus, bis von letzterer nichts mehr aufgenommen wurde.

Die ausgeschüttelte ätherische Flüssigkeit hinterliess nach dem Abdestillieren des Äthers eine grüne, nunmehr aber ganz unwirksame harzartige Masse. Die Sodalösungen wurden mit Schwefelsäure angesäuert und wieder mit Äther ausgeschüttelt, dessen Destillationsrückstand aus einem braunen klebrigen Harze bestand. Nach abermaligem Auskochen desselben mit Petroleumäther ergab eine erneute Wirkungsprobe eine abermalige Zunahme der Wirksamkeit, indem 0,004 gr. schon nach 10 Minuten Lähmung und nach 25 Minuten den Tod eines Frosches verursachten.

Aus dieser Substanz schied sich, nachdem ich sie in wenig absolutem Alkohol gelöst hatte, im Vacuum nach längerer Zeit ein Bodensatz von fast weissen, nadelförmigen Krystallen ab. Durch wiederholtes Umkrystallisieren aus heissem Alkohol konnten dieselben leicht gereinigt werden, wobei lange, weisse, seideglänzende Nadeln vom Schmelzpunkte 176° C resultierten.

Der Körper, für den ich den Namen *Protokosin* vorschlage, erwies sich bei Froschversuchen als gänzlich unwirksam. Er ist leicht löslich in Äther, Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff und Aceton, sowie auch in kochendem Weingeist, schwer löslich in kaltem Alkohol und unlöslich in Wasser.

In seinen Reaktionen zeigt Protokosin eine grosse

Ähnlichkeit mit Kosin, von welchem es aber hinsichtlich des Schmelzpunktes und der Farbe abweicht. Bei Berührung mit koncentrierter Schwefelsäure erfolgt genau wie bei Kosin Rotfärbung und beim gelinden Erwärmen die deutliche Entwickelung des Isobuttersäuregeruchs. Auf dem Platinblech erhitzt, schmelzen die Krystalle zuerst zu einer gelben Flüssigkeit; letztere wird beim stärkeren Erhitzen immer dunkler. Auch hier tritt der Isobuttersäuregeruch auf. Endlich verbrennt der Körper ohne Hinterlassung von Asche.

Die Verbrennung im Sauerstoffstrom ergab:

I. 0,1505 gr. lieferten 0,362 CO_2 und 0,101 H_2O
II. 0,2472 „ „ 0,596 CO_2 „ 0,158 H_2O
III. 0,1650 „ „ 0,397 CO_2 „ 0,106 H_2O

	gefunden I	II	III	Mittel	Berechnet für $C_{29}\ H_{38}\ O_9$
% C	65,58	65,72	65,47	65,59	65,66
% H	7,44	7,12	7,15	7,24	7,17

Die Molekulargewichtsbestimmungen nach der Gefrierpunktsmethode ergaben im Mittel 555.

Substanz	Benzol	Const.Temp.	Erniedrig.	Molekulargew.
0,133	19,674	3,46°	0,07°	473
0,354	19,674	3,46°	0,16°	551
0,552	19,674	3,46°	0,23°	598
0,671	19,674	3,46°	0,28°	597

Leider konnte ich wegen Mangels an Substanz keine weiteren Versuche mit diesem Körper anstellen. Es ist aber darauf aufmerksam zu machen, dass er auch in seiner elementaren Zusammensetzung (im Mittel 65,59% C, 7,24% H) dem Kosin (im Mittel 65,92% C, 7,59% H) ziemlich nahe kommt, während sich die Molekulargewichte zu 530 (Protokosin) und 418 (Kosin) ergeben haben.

Da diese Krystalle nicht wirksam waren, so musste der gesuchte wirksame Bestandteil noch in der Mutterlauge sich befinden. Aus derselben schieden sich indessen trotz mehr-

monatlichen Stehenlassens im Vacuum keine weiteren Krystalle mehr aus. Es mussten deswegen andere Wege eingeschlagen werden, um den wirksamen Körper zu isolieren.

Eine bei der weiteren Aufarbeitung des verbliebenen Materials besonders hinderliche Eigenschaft desselben war die ausserordentliche Klebrigkeit desselben und die Unmöglichkeit, es auch durch monatelanges Stehen im Exsiccator pulvertrocken zu erhalten. Ausserdem zeigte es sich, dass nach Einwirkung irgendwelcher stärkerer Agentien wie Barythydrat oder Kalk die Wirksamkeit sofort bedeutend abnahm. Schliesslich gelangte ich aber doch auf folgendem Wege zu einem befriedigenden Ergebnis.

Die Masse wurde in $10^0/_0$ wässriger Sodalösung ohne Anwendung von Wärme aufgelöst, von kleinen Mengen dabei ungelöst gebliebenen Harzes möglichst rasch abfiltriert, das Filtrat mit der zehnfachen Menge Wasser verdünnt und hierauf mit Essigsäure bis zur schwach sauren Reaktion versetzt. Dabei erfolgte eine voluminöse Fällung gelblicher Flocken, während die überstehende Flüssigkeit gelb gefärbt erschien. Der durch Kolieren abgetrennte Niederschlag wurde bis zum Schwinden der sauren Reaktion des Waschwassers mit destilliertem Wasser ausgewaschen und dann sofort von neuem in $10^0/_0$ Sodalösung aufgenommen und im übrigen genau wie das erste Mal verfahren. Bei der zweiten Behandlung mit Sodalösung löste sich alles ohne Rückstand, und die nach der Essigsäurefällung über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit war nicht mehr gelb gefärbt, sondern farblos. Der Niederschlag wurde endlich ohne jede Anwendung höherer Temperatur auf grossen, flachen Schalen über Schwefelsäure im Vaccuum getrocknet und liess sich schliesslich leicht zu einem feinen, stäubenden, nur wenig gelblich gefärbten Pulver zerreiben. Die Ausbeute war befriedigend; aus 1 Kilo ätherischen Extraktes resultierten circa 100,0 gr. also $10^0/_0$ des Körpers, der sich bei Froschversuchen als intensiv wirksam erwies (0,004 gr. bewirkten nach 10 Minuten Lähmung, nach 25 Minuten den Tod,)

Das Kosotoxin, so möchte ich den Körper mit Bezug-

nahme auf seine Wirksamkeit nennen, schmilzt bei 80° C und war aus keinem Lösungsmittel in krystallinischer Form zu erhalten. Es löst sich leicht in Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff und Aceton, ist aber unlöslich in Wasser. Im Gegensatz zum Kosin ist es auch in den wässrigen Lösungen der Alkalikarbonate ohne Schwierigkeit löslich. Blaues Lackmuspapier wird von der alkoholischen Lösung nicht gerötet. Im übrigen zeigt das Kosotoxin in seinen Reaktionen grosse Ähnlichkeit mit dem Kosin. Von koncentrierter Schwefelsäure wird das Pulver beim Erwärmen unter Freiwerden von Isobuttersäure mit dunkelroter Farbe gelöst. Auf dem Platinblech schmilzt es beim Erhitzen anfangs zu einer gelben Flüssigkeit, zersetzt sich bei weiterem Erhitzen unter Bräunung und Auftreten des Isobuttersäuregeruchs und verbrennt schliesslich ohne Hinterlassung von Asche. Die Lösung in absolutem Äther mit metallischem Natrium beschickt, liess keine Wasserstoffentwicklung erkennen. Die Lösung in Kalilauge reduzierte beim Erwärmen Kupfersulfat zu schön rotem Oxydulhydrat, die ammoniakalische Lösung reduzierte in der Wärme Silbernitrat unter Auftreten eines schönen Silberspiegels. Die alkoholische Lösung wird auf Zusatz eines Tropfens Ferrichloridlösung sofort tief dunkelbraunrot gefärbt, welche Färbung aber auf Zusatz einiger Tropfen Salzsäure vollständig wieder verschwindet.

Da nach der reduzierenden Einwirkung des Kosotoxins auf Kupfer- und Silbersalz an die Möglichkeit zu denken war, dass der Stoff die Aldehydgruppe enthielte, führte ich auch die Fuchsinreaktion aus und behandelte den Körper mit saurem Kaliumsulfit, beide Versuche lieferten indes ein negatives Ergebnis.

Auch das Vorhandensein einer Carboxylgruppe dürfte wohl auszuschliessen sein, da ein nach der von Fuchs[1]) für die Basicitätsbestimmung von Säuren beschriebenen Methode angestellter Versuch ein unzweideutiges, durchaus negatives Resultat ergab.

[1]) Monatshefte der Chemie XI 1889 pag. 1139.

Bei der Elementaranalyse (Verbrennung im Sauerstoffstrom) lieferten:

I.	0,2772	gr. Substanz	0,6295 CO_2	und	0,178 H_2O
II.	0,2315	„ „	0,5230 CO_2	„	0,146 H_2O
III.	0,3170	„ „	0,7225 CO_2	„	0,202 H_2O
IV.	0,3150	„ „	0,7135 CO_2	„	0,174 H_2O
V.	0,2315	„ „	0,5195 CO_2	„	0,141 H_2O

	gefunden						Berechnet für
	I	II	III	IV	V	Mittel	$C_{26}H_{34}O_{10}$
% C	61,57	61,59	62,19	61,78	61,21	61,67	61,66
% H	7,14	6,99	7,08	6,12	6,73	6,81	6,71

Die Bestimmung der Molekulargrösse nach der Gefrierpunktsmethode gab folgende Resultate:

Substanz	Benzol	Const. Temp.	Erniedrig.	Molekular-Gew.	Mittel
0,7070	19,2195	3,41	0,36°	501	
1,5950	19,2195	3,41	0,77°	528	
0,7400	20,5595	3,41	0,36°	490	
1,5530	20,5595	3,41	0,70°	529	523
2,0180	20,5595	3,41	0,89°	540	
2,4060	20,5595	3,41	1,04°	551	

Angesichts der guten Übereinstimmung der vorstehenden Zahlenwerte wird die Annahme, dass das Kosotoxin $C_{26}H_{34}O_{10}$ ein einheitlicher Körper ist, gerechtfertigt.

Da, wie bemerkt, auch das Kosotoxin bei Einwirkung von Schwefelsäure Isobuttersäure abspaltet, so habe ich nach der beim Kosin angegebenen Weise auch hier die auftretende Säure quantitativ bestimmt und erhielt in drei Versuchen:

I	II	III	
29,92	29,04	32,56 %	Buttersäure.

Während es mir nicht gelungen war, das Kosin durch Kochen mit Kalilauge in befriedigender Weise zu spalten, zersetzte sich Kosotoxin unter dieser Versuchsbedingung leicht unter Bildung von isobuttersaurem Kali. Zur Kon-

trolle versuchte ich auch hier die Ausführung einer quantitativen Säurebestimmung.

Ich kochte 1,0 gr getrocknete Substanz in einem Destillationskolben 5 Stunden mit 20prozentiger Kalilauge. Hierauf säuerte ich die Lösung mit Schwefelsäure an und destillierte die so frei gewordene Isobuttersäure mit Wasserdämpfen über. Vorgelegt war wieder 20 ccm Normalkalilauge. Das Resultat dieser Bestimmung war 31,68 % Isobuttersäure, welcher Prozentgehalt mit den obigen Angaben befriedigend übereinstimmt.

Bei Zugrundelegung der für das Kosotoxin aufgestellten Formel $C_{26}H_{34}O_{10}$ würden die gefundenen Säuremengen dafür sprechen, dass hier auch zwei Butyrilreste im Molekul enthalten sind, welchen 34,8 % Isobuttersäure entsprächen.

Da ich aber, wie oben bereits hervorgehoben, nicht mit Sicherheit behaupten darf, dass nur Isobuttersäure und nicht noch anderweitige flüchtige Fettsäuren abgetrennt und mit titriert worden sind, so möchte ich nicht allzuviel Gewicht auf diese Befunde legen. Späteren Untersuchungen dürften sie vielleicht als nicht ganz wertloser Anhaltspunkt dienen.

Auch die von mir aufgestellten Formeln sind natürlich vorläufig lediglich als kurze Zusammenfassung der analytischen Ergebnisse aufzufassen und können erst durch eingehendere Untersuchungen über die Konstitution dieser Körper bestätigt oder verworfen werden.

Da ich auf dem von mir eingeschlagenen Wege zur Isolierung des Kosotoxins aus dem ätherischen Auszug der Kosoblüten das Kosin Merck nicht erhalten konnte, so lag die Vermutung nahe, dass letzteres vielleicht durch Einwirkung energischer Reagentien auf das Kosotoxin aus diesem zu gewinnen sein würde. Es gelang mir dies auch in der That und zwar durch Kochen des Kosotoxins mit Barythydrat.

In $2^1/_2$ % Barytlauge löst sich Kosotoxin bis auf einen unerheblichen Rückstand.

Wird die kalt bereitete Lösung mit Essigsäure angesäuert, so entsteht ein rötlicher Niederschlag, der leicht und vollständig beim Schütteln mit Äther von diesem aufgenommen

wird. Der Destillationsrückstand des Äthers zeigt aber keine Neigung zur Krystallisation.

Es scheint im wesentlichen unverändertes, nur etwas dunkler gefärbtes Kosotoxin vorzuliegen. Kocht man nun aber die Lösung des Kosotoxins in Barytlauge kurze Zeit, so erfolgt bald unter Auftreten eines unangenehmen an Stiefelwichse erinnernden Geruches, Trübung der Flüssigkeit. In dem von dieser Trübung getrennten Filtrate erzeugt Essigsäure gleichfalls einen voluminösen, rötlichen Niederschlag, der mit Äther ausgeschüttelt und nach dem Abdestillieren des letzteren in heissem Alkohol aufgenommen, nach dem Erkalten ziemlich bald zu kystallisieren anfängt. Es mag im Folgenden ein Versuch dieser Art genauer beschrieben werden.

Ich kochte 10,0 Kosotoxin mit 200,0 einer 5prozentigen Barythydratlösung ungefähr 20 Minuten. Hierbei löste sich der Körper fast vollständig. Die Lösung filtrierte ich und kochte den ungelösten Rückstand nochmals mit Wasser aus. Die vereinigten Filtrate wurden mit Essigsäure angesäuert und dann mit Äther ausgeschüttelt. Der Niederschlag ging mit rötlicher Farbe in die ätherische Lösung über. Die nach dem Abdestillieren des Äthers erhaltene, rotbraune, amorphe Masse wurde in wenig heissem Alkohol gelöst, aus welcher Lösung sich gelbe Krystalle ausschieden. Die Ausbeute betrug etwa 1,5 gr, also 15 Prozent des angewandten Kosotoxins.

Um die für die Bildung des krystallisierten Kosins massgebenden Bedingungen näher kennen zu lernen, stellte ich einen Versuch auch in der Weise an, dass Kosin und Barythydrat zu gleichen Teilen mit der erforderlichen Menge Wasser in einer Druckflasche längere Zeit (8 Stunden) im kochenden Wasserbade erhitzt wurden. Die auf diesem Wege erzielte Ausbeute an Krystallen war aber eine ungünstigere. Auch versuchte ich, ob man vielleicht durch Abfiltrieren des in der Barytlösung beim genauen Neutralisieren mit Essigsäure entstehenden Niederschlages, Auswaschen und Trocknen desselben im Vacuum und schliessliches Auflösen in Alkohol

reichlichere Krystallmengen erhält. Auch dies war nicht der Fall. Nur dadurch konnte ich die Ausbeute auf 20 Prozent des verarbeiteten Kosotoxins steigern, dass ich die Menge des angewandten Barythydrates auf das Vierfache des Kosotoxins steigerte.

Aus den rotbraunen Mutterlaugen, die jedesmal intensiv nach flüchtigen Fettsäuren und zwar nicht bloss nach Essigsäure, sondern auch ganz unverkennbar nach Isobuttersäure rochen, konnten zwar nach Abtrennung der ersten reichlichen Krystallisation noch wiederholt kleinere Mengen von Krystallen erhalten werden, indessen verblieb doch immer die Hauptmenge des Reaktionsproduktes als dunkelrotbraune, amorphe Masse.

Die Krystalle bildeten nach wiederholtem Umkrystallisieren aus heissem Alkohol schöne gelbe, zu Büscheln vereinigte Nadeln, welche bei 148 °, wie das Kosin Merck schmolzen. Auch die Analysen ergaben dieselben Resultate, so dass also feststeht, dass das Kosin aus dem Kosotoxin erhalten werden kann.

I. 0,2385 gr Substanz lieferten 0,578 CO_2 und 0,1595 H_2O
II. 0,2685 „ „ „ 0,652 CO_2 „ 0,1805 H_2O
III. 0,2440 „ „ „ 0,590 CO_2 „ 0,1610 H_2O

	I	II	III	Mittel
% C	66,07	66,29	65,98	66,11
% H	7,33	7,49	7,33	7,38

Es hat mir leider an Zeit gefehlt, die Entstehung des Kosins aus dem Kosotoxin noch weiter zu verfolgen und zu untersuchen, ob nicht vielleicht durch weitere Modifikationen des Verfahrens die Überführung beider Körper in einander in befriedigenden Mengenverhältnissen möglich ist. Immerhin aber dürfen aus den mitgeteilten Beobachtungen jetzt schon folgende Schlüsse gezogen werden:

1) Die Bedingungen, unter denen das Kosin aus dem Kosotoxin in meinen Versuchen entstand, zusammen mit der Unmöglichkeit, es durch weniger eingreifende Behandlung der Mutterdrogue aus denselben zu isolieren, machen es im

höchsten Grade unwahrscheinlich, dass es ein präformierter d. h. natürlicher Bestandteil der *flores Koso* ist.

2) Das konstante Auftreten des Isobuttersäuregeruchs und reichlicher Mengen amorpher rotbrauner Nebenprodukte sprechen dafür, dass die chemische Umwandlung des Kosotoxins in Kosin kein sehr einfacher Vorgang ist, wie denn auch vor der Hand der Vergleich der elementaren Zusammensetzung und der Molekulargewichte beider Körper einfache Beziehungen derselben, wie z. B. die eines Hydrates zu einem Anhydrid nicht erkennen lassen.

An dieser Stelle sei mir noch vergönnt, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. med. R. Boehm, für die mir stets mit so grosser Bereitwilligkeit gewährte Unterstützung und Anregung den wärmsten Dank auszusprechen.

Ebenso danke ich Herrn Privatdocent Dr. med. et phil. Heffter, Assistent des pharmakologischen Instituts, für die freundliche Unterstützung, die er mir bei der Ausführung hat zu teil werden lassen.

Druck von Hesse & Becker in Leipzig.